

基于对淡色库蚊生物活性的植物源蚊香 增效剂的筛选

张洁¹, 刘辉², 杨晓伟¹, 张兴^{1,*}

(1. 西北农林科技大学无公害农药研究服务中心, 陕西杨陵 712100;

2. 深圳馥稷生物科技有限公司, 广东深圳 518133)

摘要:【目的】本研究通过测定固体蚊香对淡色库蚊 *Culex pipiens pallens* 的生物活性, 比较筛选冬青油等 12 种植物精油对固体蚊香的增效活性, 为其开发和应用提供理论依据。【方法】以淡色库蚊羽化后 3–5 d 的成蚊为试虫, 采用密闭圆筒法测定冬青油、八角叶油、黄樟油、香樟油、香茅油、山苍子油、白樟油、柠檬草油、薄荷素油、八角茴香油、芳樟油和熏衣草油 12 种精油对蚊香中烯丙菊酯的协同增效作用; 采用密闭圆筒法和 5.8 m³ 小屋法相结合的方法, 对筛选出增效活性明显的植物精油进行组合复配, 筛选出最佳组合配方并进行质量指标测定。【结果】通过生物测定发现冬青油、芳樟油、黄樟油、白樟油和香樟油 5 种植物精油对烯丙菊酯具有较好的协同增效作用, 增效比为 1.292 ~ 1.364; 冬青油和香樟油的混合物 (1:1) 对盘式蚊香中烯丙菊酯具有明显的协同增效作用。通过对溶剂、乳化剂的筛选, 确定增效剂的配方为 30% ~ 84% 的植物提取物、10% ~ 53.5% 的溶剂、6.5% 的乳化剂 (NP-2), 其中最经济的增效剂配方为 30% 冬青油 + 30% 香樟油 + 3.35% 乙酸乙酯 + 30.15% 乙酸丁酯 + 6.5% NP-2。【结论】本研究得出的盘式蚊香增效剂配方 (30% 冬青油 + 30% 香樟油 + 3.35% 乙酸乙酯 + 30.15% 乙酸丁酯 + 6.5% NP-2) 在蚊香中对于烯丙菊酯具有明显的增效效果, 具有显著的产业化开发前景。

关键词: 淡色库蚊; 植物精油; 蚊香; 增效活性; 质量指标

中图分类号: Q965.9 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2018)01-0094-09

Screening of plant-derived synergistic agents for mosquito coil based on the bioefficacy against *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae)

ZHANG Jie¹, LIU Hui², YANG Xiao-Wei¹, ZHANG Xing^{1,*} (1. Research & Development Center of Biorational Pesticide, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Shenzhen Fuji Biotechnology Co. Ltd., Shenzhen, Guangdong 518133, China)

Abstract: 【Aim】 This study aims to compare the synergism of 12 essential oils such as wintergreen oil to solid mosquito repellent in the bioassay of solid mosquito coil against *Culex pipiens pallens*, so as to provide a theoretical basis for the development and application of solid mosquito coil. 【Methods】 With the 3–5 day-old adults of *Cx. pipiens pallens* as the test insects, the synergistic effects of 12 essential oils including wintergreen oil, octagonal leaf oil, sassafras oil, camphor oil, citronella oil, litsea cubeba oil, white camphor oil, lemon grass oil, peppermint oil, star anise oil, linaloe wood oil and lavender oil on allethrin in solid mosquito coil were determined using closed cylinder. Mixtures of essential oils with obvious synergistic effects screened above were made, the best mixture was screened using closed cylinder

基金项目: 绿色新农药创制开发 (2014BAD23B01)

作者简介: 张洁, 1984 年生, 女, 陕西杨凌人, 博士研究生, 研究方向为植物源杀虫剂, E-mail: deit1984@sina.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhxing1952@126.com

收稿日期 Received: 2017-09-28; 接受日期 Accepted: 2017-11-13

and the 5.8 m³ cabin, and its quality was tested. 【Results】 The results showed that five essential oils including wintergreen oil, linaloe wood oil, sassafras oil, white camphor oil and camphor oil had good synergistic effects on allethrin, with the synergistic ratios of 1.292 – 1.364, and the mixture of wintergreen oil and camphor oil (1:1) had an obvious synergistic effect on allethrin. After selection of the solvent and emulsifier, the formula of synergists was determined as 30% – 84% plant extracts, 10% – 53.5% solvent and 6.5% emulsifier (NP-2), and the most economic formula of synergists was 30% wintergreen oil + 30% camphor oil + 3.35% ethyl acetate + 30.15% butyl acetate + 6.5% NP-2. 【Conclusion】 The formulated synergist (30% wintergreen oil + 30% camphor oil + 3.35% ethyl acetate + 30.15% butyl acetate + 6.5% NP-2) has an obvious effect on allyl permethrin in solid mosquito coil with a promising future of commercialization.

Key words: *Culex pipiens pallens*; essential oil; mosquito coil; synergistic activity; quality index

在地球上存在的 70 多万种昆虫中,卫生害虫是危害人体健康最甚的一类,尤其是蚊虫在影响人类日常生活的同时还传播着诸多疾病 (Pohlit *et al.*, 2001)。人类不断用各种手段与蚊虫争斗,蚊香便是人类最早且最普遍的防止蚊虫叮咬的手段。盘式蚊香主要由杀虫原料、燃料、助剂等制成,它采用一定的热源,可长时间、恒定地在空气中释放有效成分从而驱杀各种蚊虫 (Liu *et al.*, 2003)。近年来,拟除虫菊酯因为其效率高、毒性低、对人体和家畜相对安全,被作为蚊香中的有效成分而被广泛使用。

增效剂是指对昆虫具有较低或者没有杀虫活性的化学物质,但当它与某种具有杀虫活性的成分混合时,可用于维持原始杀虫剂的功效或提高其有效性,达到减少杀虫制剂的剂量和节省配方成本的目的 (Falk and Kotin, 1969; 姜志宽等, 1996)。目前,蚊香的增效剂主要是化学合成物质,这些化学合成中大多数物质具有一定的毒性,如增效砒、增效环、增效酯、增效胺、增效醛、八氯二丙醚等 (Bernard and Philogène, 1993; 陈超等, 2006; 王以燕等, 2006)。

植物和昆虫在长期协同进化过程中产生许多次生代谢物 (胡仕林, 1992; 徐汉虹和赵善欢, 1993; Wink, 2015), 如植物精油、木质素、生物碱等。这些物质可以在昆虫的不同生长发育阶段产生毒杀驱避、抑制生长发育等作用 (Tripathi *et al.*, 2009; Sola *et al.*, 2014)。由于进化作用,植物的次生代谢产物对昆虫的代谢解毒系统具有抑制作用,对昆虫代谢解毒系统的抑制作用是大多数增效剂的作用机制。因此,已经发现了一些天然增效剂,如芝麻素和胡椒碱等 (胡仕林, 1992; 徐汉虹和赵善欢, 1993; 胡宏云, 1994; 秦朗和王亚明, 2005; 史秀娟和王学海, 2006; Tripathi *et al.*, 2009; Wink, 2015)。但目前的蚊香在天然增效剂研究中是非常缺乏的。西北林

业大学无公害农药研究服务中心发现,多种植物性物质的杀虫活性都较高 (吴文君, 2000; 张兴, 2008)。初步研究发现,冬青油等植物提取精油对蚊香都具有较好的增效效果 (江志利等, 2002)。

本研究以淡色库蚊 *Culex pipiens pallens* 为试验对象,通过筛选 12 种植物精油在蚊香中的增效活性,筛选出具有增效功效的植物精油。经过对具有增效作用的植物精油进行复配增效筛选,初步确定了蚊香增效剂的配方,并且依据不同植物精油的溶解性进行复配组合并进行增效活性测定,最终得出增效活性较好、对环境相对安全且成本合理的增效剂配方,其具有较好的商业开发前景。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

从中国军事医学科学院引种的敏感品系,在西北农林科技大学无公害农药研究服务中心养虫室饲养的淡色库蚊 *Cx. pipiens pallens*。饲养温度为 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度为 $60\% \pm 5\%$, 光周期为 12L: 12D, 生物活性测定均选取整齐一致、羽化后 3 – 5 d、健康未吸过血的雌性成蚊。

1.2 试剂

试验所需的 12 种植物精油——冬青油、八角叶油、黄樟油、香樟油、香茅油、山苍子油、白樟油、柠檬草油、薄荷素油、八角茴香油、芳樟油、熏衣草油,均购自江西威霸精油公司。

烯丙菊酯 (94%)、炔丙菊酯 (94%)、八氯二丙醚 (98%)、脱臭煤油 (工业用)、NP-2 (CP)、OP-10 (CP) 等试剂购自深圳翔润达生物科技公司。

乙酸乙酯、甲酸乙酯、乙酸丁酯、乙酸甲酯、丙二酸二乙酯、丙烯酸丁酯、丙烯酸甲酯、乙酸乙烯酯、邻

苯二甲酸二甲酯、乙酰乙酸乙酯、甲酸甲酯、碳酸二乙酯、1,2-丙二醇、乙酸异戊酯、磷酸三甲酯均为 AR 级。

1.3 蚊香的制备

增效剂的制备方法:称取 9.406 g 相应的植物精油成分后,加入溶剂,搅拌至混合。

蚊香制剂的制备比例:将 51 g 上述蚊香增效剂缓慢加入 136 g 脱臭煤油中,搅拌均匀后,加入 24 g 烯丙菊酯,再次搅拌均匀得药液。

制作蚊香:称取蚊香原胚 3.0 g,用棉签蘸取上述配制好的蚊香制剂,在蚊香原胚正面均匀涂抹(涂抹剂量为 0.2000 g),静置至蚊香原胚充分吸收蚊香制剂。

1.4 研制蚊香增效剂的配方

1.4.1 植物精油的增效活性筛选:按 1.3 节方法制备含植物精油的蚊香,采用密闭圆筒法测定 12 种精油对蚊香中烯丙菊酯的增效活性,并按下列公式计算每种植物精油的增效比:

$$\text{增效比} = \frac{\text{含植物精油烯丙菊酯蚊香 } \text{KT}_{50}}{\text{烯丙菊酯蚊香 } \text{KT}_{50}} \quad (1)$$

1.4.2 植物精油混合增效制剂的筛选:将 1.3 节测试中增效效果最显著的植物精油与增效效果其次的 4 种植物精油进行质量比 1:1 混配作为增效剂,按照 1.3 节所述方法制成蚊香制剂。采用密闭圆筒法,测定在该质量比下植物精油混配配方制成的蚊香对淡色库蚊幼虫的 KT_{50} 。

1.4.3 筛选最佳混配的溶剂:在脱臭煤油中各按 1%, 5%, 10%, 20% 和 40% 比例滴入甲酸乙酯、乙酸丁酯等 15 种浓度不同的溶剂,静置 24 h 后观察各溶剂与脱臭煤油的溶解性状,筛选出两种在脱臭煤油中相溶性好的溶剂。然后将选出的两种溶剂进行混配,混配溶剂的质量比分别为 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 和 10:0,并测定各混合溶液制成的蚊香对淡色库蚊羽化后 3-5 d 成蚊的 KT_{50} 值。两种混合溶剂的最佳配比以 KT_{50} 最小时的值为准。

1.4.4 乳化剂的最佳用量:测定产品中乳化剂的用量,样品为植物精油,目的在于测定烯丙菊酯煤油溶液中乳化剂的溶解性能。

将浓度为 15%, 10%, 8%, 6.5% 和 4.5% 的乳化剂 NP-2 分别加入植物提取物样品中,观察后再分别加入同样 17.5% 的烯丙菊酯,常温静置 24 h。后分别观察加入后分别观察加入乳化剂 NP-2 对植物精油的沉淀量,目的为确定蚊香增效剂中乳化剂

浓度的用量。

1.5 生物活性的测定

1.5.1 密闭圆筒测定法:以羽化后 3-5 d 且健康、无残缺、未吸过血的雌性淡色库蚊(成蚊)为试虫,采用 GB/T 13917.4-2009 方法进行实验,随后按机值法将每次重复检查的数据整理,并计算出其相关系数、24 h 死亡率、毒力回归线及 KT_{50} 。

空白试验时,如供试蚊虫的死亡率在 5% ~ 20% 时,必须用 Abbott 公式校正试虫死亡率,公式如下:

$$\text{死亡率}(\%) = \frac{\text{死亡虫数}}{\text{供试总虫数}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{校正死亡率}(\%) = \frac{\text{对照组生存率} - \text{处理组生存率}}{\text{对照组生存率}} \times 100 \quad (3)$$

蚊香的室内药效评判标准依据 GB/T 13917.4-2009 对密闭圆筒法对测试得出的 KT_{50} 进行药效评判,结果分为 A 和 B 两级(A 级: $\text{KT}_{50} \leq 4.0 \text{ min}$; B 级: $\text{KT}_{50} \leq 8.0 \text{ min}$),其中低于 B 级的不记录。

1.5.2 5.8 m³ 方箱实验法:采取 5.8 m³ 方箱实验法,要求方箱总体积为 5.8 m³,长宽高均为 1.8 m。供试蚊虫南方采用致乏库蚊 *Cx. pipiens fatigans*,北方采用淡色库蚊 *Cx. pipiens pallens*,均要求羽化后 3-5 d 且未吸过血的健康雌性成蚊。试验时相对湿度 60% ± 5%,环境温度要求 25 ± 1℃。

在 5.8 m³ 方箱内放入 100 头供试蚊虫,等待一段时间待其恢复活动能力后,迅速在方箱内水平放置一段含有蚊香制剂及增效剂的蚊香,点燃密封后开始计时,以 40 min 为时间段,每隔 2 min 清点并记录被击倒的试蚊数量。40 min 后将密闭圆筒中的所有蚊虫取出放入养蚊笼中,用棉球蘸取 5% 的糖水喂养,24 h 后检查 100 头供试蚊虫的死亡数,重复检查 3 次以上。计算出其死亡率及击倒率。

1.6 质量检测

1.6.1 热贮稳定性检测:在干净无菌的安培瓶中注入 30 mL 增效剂的试验样品,并将安培瓶置于冰盐浴中,同时用火焰迅速封住瓶口,防止试验样品挥发。取干净金属容器,将密封好的装有增效剂的安培瓶置于其中,放入 55 ± 2℃ 的恒温箱中。两周后取出,用气相色谱及液相色谱对其进行分析,计算出分解率。

1.6.2 冷贮稳定性测试:在离心管中加入 100 mL 蚊香增效剂试验品,随后将离心管放入制冷器中冷却至 1℃。并保持此温度 1 h,在此 1 h 内每 15 min

搅拌 1 次,每次 20 s 左右,注意每次搅拌时观察有无析出油状物或固体产生。如此 1 h 时后,将装有试验样品的离心管继续放入制冷器中在 $0 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 放置 7 d。7 d 后将离心管从制冷器中取出在常温下静置 3.5 h 左右,中间观察。待其恢复室温后离心分离 15 min,分离同时观察并记录离心管内底部体积,要求精确至 0.03 mL。以最后的离析物小于 0.3 mL 为标准。如小于 0.3 mL 证明其增效活性合格。

参照国标 GB/T 1600-2001, GB/T 1601-93 和 GB 3776. 5-83 对蚊香增效剂的含水量、pH 值和闪

点进行测定,并对沸程、旋光度以及密度进行测定。

2 结果

2.1 12 种植物精油对烯丙菊酯的增效活性

在溶剂中分别加入冬青油等 12 种植物精油,待其与溶剂相融后分别再加入 17. 5% 烯丙菊酯。用密闭圆筒法测试法对羽化后 3 – 5 d 淡色库蚊的成蚊进行熏杀活性测定,结果如表 1 所示。

表 1 12 种植物精油对烯丙菊酯的增效作用
Table 1 The synergistic effects of 12 essential oils on allethrin

植物精油 Essential oils	KT ₅₀ (min)	毒力方程 Virulence equation	相关系数(<i>r</i>) Correlation coefficient	卡方值(χ^2) <i>Chi</i> -square value	95% 置信限(min) 95% Confidence limit	24 h 死亡率(%) Mortality in 24 h	增效比 Synergistic ratio
八角叶油 Octagonal leaf oil	1. 449	$y = 4. 496 + 3. 129x$	0. 981	1. 840	1. 189 – 1. 766	77. 28	1. 131
山苍子油 Litseacubeba oil	1. 447	$y = 4. 834 + 2. 965x$	0. 983	3. 060	1. 197 – 1. 750	76. 66	1. 152
香茅油 Citronella oil	1. 574	$y = 4. 478 + 2. 648x$	0. 987	1. 410	1. 251 – 1. 981	60. 00	1. 040
柠檬草油 Lemon grass oil	1. 286	$y = 4. 738 + 2. 310x$	0. 985	1. 830	1. 023 – 1. 618	57. 13	1. 282
冬青油 Wintergreen oil	1. 233	$y = 4. 788 + 2. 334x$	0. 991	0. 610	0. 969 – 1. 568	69. 71	1. 333
八角茴香油 Star anise oil	1. 302	$y = 4. 710 + 2. 529x$	0. 981	2. 110	1. 021 – 1. 661	54. 54	1. 264
芳樟油 Linaloe wood oil	1. 226	$y = 4. 753 + 2. 7878x$	0. 991	1. 190	0. 977 – 1. 539	78. 25	1. 343
黄樟油 Sassafras oil	1. 276	$y = 4. 711 + 2. 730x$	0. 988	0. 980	1. 038 – 1. 568	51. 44	1. 292
白樟油 White camphor oil	1. 210	$y = 4. 733 + 3. 228x$	0. 996	0. 270	0. 950 – 1. 541	61. 90	1. 364
薄荷素油 Peppermint oil	1. 595	$y = 4. 448 + 2. 716x$	0. 993	0. 720	1. 245 – 2. 044	63. 63	1. 030
香樟油 Camphor oil	1. 261	$y = 4. 737 + 2. 614x$	0. 979	2. 030	1. 007 – 1. 580	75. 00	1. 301
薰衣草油 Lavender oil	1. 352	$y = 4. 654 + 2. 643x$	0. 924	0. 970	0. 813 – 2. 248	72. 00	1. 213
烯丙菊酯 Aallethrin	1. 643	$y = 4. 413 + 2. 723x$	0. 999	0. 120	1. 337 – 2. 020	50. 00	–

试验采用密闭圆筒法测定固体蚊香对淡色库蚊羽化后 3 – 5 d 成蚊的熏杀活性,蚊香燃烧时间为 1 min。Closed cylinder method was used to determine the fumigant activity of solid mosquito coils against the 3 – 5 day-old adults of *Culex pipiens pallens*, and the ignition time of mosquito coils is 1 min.

从表 1 中可以看出,冬青油、八角叶油、黄樟油、香樟油、香茅油、山苍子油、白樟油、柠檬草油、薄荷素油、八角茴香油、芳樟油和薰衣草油 12 种植物精

油对于烯丙菊酯都具有一定的增效作用。其中冬青油和 4 种樟油(芳樟油、黄樟油、白樟油和香樟油)表现出了明显的增效作用,增效比为 1. 292 ~

1. 364。

2.2 植物精油的最佳配比

由于具有明显增效作用的 5 种精油(冬青油、芳樟油、黄樟油、白樟油、香樟油)的化学结构差异较大,所以需要将冬青油与 4 种樟油混配,由此进一步筛选出增效活性更好的配方。因此共配制 4 个样品配方进行筛选,4 个样品配方如下。

样品配方 1:17.5% 烯丙菊酯 + 2.1% 异丙醇 + 15.7% 白樟油 + 15.7% 冬青油 + 24.5% 乙酸丁酯 + 24.5% 脱臭煤油;

样品配方 2:17.5% 烯丙菊酯 + 2.1% 异丙醇 +

15.7% 黄樟油 + 15.7% 冬青油 + 24.5% 乙酸丁酯 + 24.5% 脱臭煤油;

样品配方 3:17.5% 烯丙菊酯 + 2.1% 异丙醇 + 15.7% 芳樟油 + 15.7% 冬青油 + 24.5% 乙酸丁酯 + 24.5% 脱臭煤油;

样品配方 4:17.5% 烯丙菊酯 + 2.1% 异丙醇 + 15.7% 香樟油 + 15.7% 冬青油 + 24.5% 乙酸丁酯 + 24.5% 脱臭煤油。

由表 2 可以看出,复配样品 4 的配方增效效果最为明显,对淡色库蚊羽化后 3-5 d 成蚊的 KT_{50} 为 0.634 min,由冬青油与香樟油混配而成。

表 2 冬青油与其他精油混配对烯丙菊酯的增效活性
Table 2 Synergistic activity of the mixtures of wintergreen oil and other essential oils on allethrin

配方编号 Mixture no.	KT_{50} (min)	毒力方程 Virulence equation	相关系数(r) Correlation coefficient	卡方值(χ^2) <i>Chi-square value</i>	95% 置信限(min) 95% Confidence limit
1	0.695	$y = 5.673 + 3.712x$	0.989	0.176	0.564 - 0.860
2	0.660	$y = 5.869 + 4.886x$	0.987	0.204	0.581 - 0.750
3	0.674	$y = 5.794 + 4.332x$	0.988	0.182	0.588 - 0.771
4	0.634	$y = 5.837 + 4.239x$	0.986	0.175	0.555 - 0.725

1: 17.5% 烯丙菊酯 + 2.1% 异丙醇 + 15.7% 白樟油 + 15.7% 冬青油 + 24.5% 乙酸丁酯 + 24.5% 脱臭煤油; 2: 17.5% 烯丙菊酯 + 2.1% 异丙醇 + 15.7% 黄樟油 + 15.7% 冬青油 + 24.5% 乙酸丁酯 + 24.5% 脱臭煤油; 3: 17.5% 烯丙菊酯 + 2.1% 异丙醇 + 15.7% 芳樟油 + 15.7% 冬青油 + 24.5% 乙酸丁酯 + 24.5% 脱臭煤油; 4: 17.5% 烯丙菊酯 + 2.1% 异丙醇 + 15.7% 香樟油 + 15.7% 冬青油 + 24.5% 乙酸丁酯 + 24.5% 脱臭煤油。试验方法同表 1。1: 17.5% Allethrin + 2.1% isopropanol + 15.7% white camphor oil + 15.7% wintergreen oil + 24.5% butyl acetate + 24.5% deodorized kerosene; 2: 17.5% Allethrin + 2.1% isopropanol + 15.7% sassafras oil + 15.7% wintergreen oil 24.5% butyl acetate + 24.5% deodorized kerosene; 3: 17.5% Allethrin + 2.1% isopropanol + 15.7% linaloe wood oil + 15.7% wintergreen oil + 24.5% butyl acetate + 24.5% deodorized kerosene; 4: 17.5% Allethrin + 2.1% isopropanol + 15.7% camphor oil + 15.7% wintergreen oil + 24.5% butyl acetate + 24.5% deodorized kerosene. The test method is the same as that in Table 1.

2.3 植物源蚊香增效剂的配方筛选

2.3.1 乳化剂在蚊香增效剂中的用量:将确定好的乳化剂 NP-2 加入其他植物试品中,静置 24 h,待其充分溶解,如表 3 所示,蚊香增效剂中烯丙菊酯的溶解性均较好。

表 3 在蚊香液中乳化剂 NP-2 用量的确定
Table 3 Application amounts of emulsifier NP-2 in mosquito repellent liquid

加入乳化剂量 Amount of added emulsifier	现象(24 h 后) Phenomenon observed after 24 h
4.5%	有少许分层 Slight stratification
6.5%	透明清亮 Clear and transparent
8%	有少许分层 Slight stratification
10%	严重分层 Severe stratification
15%	严重分层 Severe stratification

从表 3 中可以看出,在蚊香增效剂加入 6.5% 的乳化剂 NP-2 后呈清亮透明状,加入 4.5% 及 8% 的乳化剂 NP-2 后产生了分层,加入浓度为 10% 及

15% 乳的化剂 NP-2 后分层严重,因此浓度为 6.5% 的乳化剂 NP-2 为最佳选择。

2.3.2 最佳配比的溶剂筛选:在脱臭煤油在分别滴入不同浓度的乙酸乙酯、乙酸甲酯等 15 种溶剂,静置 24 h,观察脱臭煤油中 15 种不同溶剂的溶解性,结果见表 4。

从表 4 中可见,逐渐加大脱臭煤油中 15 中溶剂的剂量后,发现在 1%, 5%, 10%, 20% 和 40% 4 种不同浓度中乙酸乙酯、乙酸丁酯、丙烯酸甲酯及碳酸二乙酯 4 种溶剂的溶解性均较好。但是由于丙烯酸甲酯含有不饱和双键,因此抗氧化能力与其他几种溶剂相比较差,故不采用。最后根据价格等多种因素,以乙酸乙酯为增效剂溶剂的首选。

试验同时测定了乙酸乙酯及乙酸丁酯在质量比分别为 0:10, 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1 和 10:0 时各混合溶液对羽化后 3-5 d 淡色库蚊成蚊的击倒中时,这两种溶剂的最佳配比以 KT_{50} 值时的最小质量为准(表 5)。

表 4 不同溶剂在脱臭煤油中的溶解度

Table 4 Solubility of different solvents in deodorized kerosene

序号 Serial no.	溶剂 Solvent	溶剂浓度 Concentration of solvents				
		1%	5%	10%	20%	40%
1	甲酸乙酯	无色透明	不明显淡白色	呈明显淡白色	无色透明	无色透明
	Ethyl formate	Colorless and transparent	Pale white, but not obvious	Significantly white	Colorless and transparent	Colorless and transparent
2	乙酸甲酯	白色	乳白色	乳白色	乳白色	乳白色
	Methyl acetate	White	Milky white	Milky white	Milky white	Milky white
3	丙二酸二乙酯	无色透明	无色透明	出现小油滴	出现小油滴	—
	Diethyl malonate	Colorless and transparent	Colorless and transparent	With small oil droplets	With obviously small oil droplets	—
4	丙烯酸丁酯	无色透明	白色	白色加重	—	—
	Butyl acrylate	Colorless and transparent	White	Whitening	—	—
5	丙烯酸甲酯	无色透明	无色透明	无色透明	无色透明	无色透明
	Methyl acrylate	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent
6	乙酸乙烯酯	无色透明	无色透明	无色透明	无色透明	出现小油滴
	Vinyl acetate	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	With small oil droplets
7	邻苯二甲酸二甲酯	有小油滴	—	—	—	—
	Dimethyl phthalate	With small oil droplets	—	—	—	—
8	乙酸丁酯	无色透明	无色透明	无色透明	无色透明	无色透明
	Butyl acetate	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent
9	乙酸乙酯	无色透明	无色透明	无色透明	无色透明	无色透明
	Ethyl acetate	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent
10	乙酰乙酸乙酯	显油滴，絮状悬浮	—	—	—	—
	Ethyl acetoacetate	With oil droplets, flocculent suspension	—	—	—	—
11	甲酸甲酯	无色透明	无色透明	无色透明	乳白色，有小油滴	—
	Methyl formate	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Creamy, with oil flowers	—
12	碳酸二乙酯	无色透明	无色透明	无色透明	无色透明	无色透明
	Diethyl carbonate	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent	Colorless and transparent
13	1,2 丙二醇	无色透明	少量油花	—	—	—
	1,2-Propanediol	Colorless and transparent	Little oil	—	—	—
14	乙酸异戊酯	无色透明	白色	—	—	—
	Isoamyl acetate	Colorless and transparent	White	—	—	—
15	磷酸三甲酯	出现油花	—	—	—	—
	Trimethyl phosphate	With oil flowers	—	—	—	—

—：在试剂刚加入时相互不溶解,不进行 24 h 观察。—：Not dissolve each other when joined, and not subjected to 24 h observation.

表 5 溶剂最佳配比的筛选
Table 5 Screening of the optimal mixture ratio of solvents

乙酸丁酯: 乙酸乙酯 Butyl acetate: ethyl acetate	KT ₅₀ (min)	毒力方程 Virulence equation	相关系数(<i>r</i>) Correlation coefficient	卡方值(χ^2) <i>Chi</i> square value	95% 置信限 (min) Confidence limit	24 h 死亡率(%) Mortality in 24 h	增效比 Synergistic ratio
10:0	0.700	$y = 6.064 + 6.878x$	0.993	0.161	0.648 – 0.756	96.00	1.210
9:1	0.711	$y = 5.805 + 5.439x$	0.992	0.200	0.639 – 0.792	100.00	1.191
8:2	1.037	$y = 4.919 + 5.111x$	0.994	0.161	0.863 – 1.248	88.89	0.820
7:3	1.057	$y = 4.898 + 4.261x$	0.995	0.070	0.914 – 1.221	91.30	0.801
6:4	0.857	$y = 5.233 + 3.470x$	0.998	0.051	0.728 – 10.008	100.00	0.990
5:5	0.780	$y = 5.410 + 3.795x$	0.991	0.270	0.669 – 0.908	100.00	1.090
4:6	0.713	$y = 5.927 + 6.311x$	0.998	0.021	0.652 – 0.779	100.00	1.190
3:7	0.827	$Y = 5.576 + 6.976x$	0.993	0.090	0.770 – 0.889	100.00	1.020
2:8	0.936	$y = 5.160 + 5.521x$	0.986	0.281	0.852 – 1.028	100.00	0.910
1:9	1.204	$y = 4.734 + 3.296x$	0.987	0.283	0.978 – 1.482	100.00	0.700
0:10	0.773	$y = 5.497 + 4.445x$	0.998	0.041	0.676 – 0.884	100.00	1.100

试验采用密闭圆筒法测定固体蚊香对淡色库蚊羽化后 3–5 d 成蚊的熏杀活性,蚊香燃烧时间为 1 min。The closed cylinder method was adapted to determine the fumigant activity of solid mosquito coils against the 3–5 day-old adults of *Culex pipiens pallens*, and the ignition time of mosquito coils was 1 min.

由表 5 可见,随着以上两种溶剂的配比的变化,增效比也随之变化,单用乙酸丁酯时,增效比为 1.210,增效效果最明显,其次为两者混合质量配比在 9:1 及 4:6 时(增效比分别为 1.191 和 1.190)。

通过对溶剂的溶解度的测试、测试各种增效剂的稳定性及增效剂中乳化剂的用量,最终确定增效剂的配方为:30% ~ 84% 的植物提取物、10% ~

53.5% 的溶剂、6.5% 的乳化剂(NP-2)。

由以上配方做出最经济的增效剂配方 A[冬青油(30%) + 香樟油(30%) + 乙酸乙酯(3.35%) + 乙酸丁酯(30.15%) + NP-2(6.5%)] ,由表 6 结果可见增效剂配方 A 在盘式蚊香中对于烯丙菊酯具有明显的增效效果,具有显著的产业化开发前景。

表 6 增效剂对盘式蚊香中烯丙菊酯的增效作用
Table 6 Synergistic effect of synergist on allethrin in dish mosquito coils

样品 Sample	KT ₅₀ (min)	95% 置信 (min) 95% Confidence limit	毒力方程 Virulence equation	卡方值(χ^2) <i>Chi</i> -square value	相关系数(<i>r</i>) Correlation coefficient
样品 1 Sample 1	12.985	11.824 – 14.201	$y = 1.772 + 2.902x$	0.823	0.981
CK1	15.466	12.721 – 18.803	$y = 3.449 + 1.304x$	0.186	0.973
样品 2 Sample 2	13.107	12.187 – 14.096	$y = 0.932 + 3.641x$	4.575	0.937
CK2	17.180	16.385 – 18.013	$y = -1.953 + 5.270x$	1.496	0.984

试验采用采取 5.8 m³ 方箱实验法测定固体蚊香对淡色库蚊羽化后 3–5 d 成蚊的熏杀活性。样品 1 和样品 2 为加入 1.0% 配方 A 增效剂的 0.3% 烯丙菊酯盘式蚊香样品; CK1 和 CK2 为未加入增效剂的盘式蚊香样品。配方 A: 冬青油(30%) + 香樟油(30%) + 乙酸乙酯(3.35%) + 乙酸丁酯(30.15%) + NP-2(6.5%)。5.8 m³ cabin method was used to determine the fumigant activity of solid mosquito coils against the 3–5 day-old adults of *Culex pipiens pallens*. Sample 1 and 2 are 0.3% allethrin dish mosquito coil samples with 1.0% formula A synergist. CK1 and CK2 are samples of dish mosquito coils without synergist. Formula A: Wintergreen oil (30%) + camphor oil (30%) + ethyl acetate (3.35%) + butyl acetate (30.15%) + NP-2 (6.5%) .

2.4 植物源蚊香增效剂的质量检测

按 1.6.1 节方法对增效剂进行冷贮,7 d 后取出对其进行离析物测定,同时按 1.6.2 节方法对增效剂进行热贮,并计算分解率(表 7~9)。

冷贮后,得出离析物质量为 0.0293 g(表 7),可以证明,含有增效剂的蚊香冷贮结果合格。热贮后,发现其烯丙菊酯的相对分解率为 3.300%(表 8)。同时,对各冷、热贮样品进行了生物活性测定,结果表明,冷热贮藏对生物活性并无显著影响,尽管热贮藏 12 d 后活性有所降低(表 9)。此外,其他理化指

标也均符合国家标准(表 10)。

表 7 蚊香增效剂的冷贮稳定性
Table 7 Cold storage stability of the synergistic agent of mosquito coils

样品 Sample	离析物质量(g) Mass of educts	判定结果 Result
配方 A Formula A	0.0293	合格 Qualified

配方 A: 冬青油(30%) + 香樟油(30%) + 乙酸乙酯(3.35%) + 乙酸丁酯(30.15%) + NP-2(6.5%)。Formula A: Wintergreen oil (30%) + camphor oil (30%) + ethyl acetate (3.35%) + butyl acetate (30.15%) + NP-2 (6.5%) .

表 8 蚊香增效剂在盘式蚊香中的热贮稳定性

Table 8 Heat storage stability of the synergistic agent in dish mosquito coils

热贮烯丙菊酯含量(%)	常温下烯丙菊酯含量(%)	相对分解率(%)
Content of allethrin during heat storage	Content of allethrin at room temperature	Relative decomposition rate
15.531	16.061	3.300

表 9 增效剂在盘式蚊香中的冷热贮活性测定结果(12 d)

Table 9 Test results of cold and heat storage activities of the synergistic agent in dish mosquito coils (12 d)

贮藏方式	KT ₅₀	毒力方程	相关系数(<i>r</i>)	卡方值(χ^2)	24 h 死亡率(%)	95% 置信限(min)
Storage type	(min)	Virulence equation	Correlation coefficient	Chi-square value	Mortality in 24 h	95% Confidence limit
常温 Room temperature	0.697	$y = 6.67 + 7.823x$	0.994	0.110	92.830	0.617 – 0.788
冷贮 Cold storage	0.860	$y = 5.183 + 5.924x$	0.994	0.063	55.420	0.778 – 0.950
热贮 Heat storage	0.938	$y = 5.444 + 6.174x$	0.994	0.098	57.860	0.830 – 1.061

表 10 蚊香增效剂的理化性质

Table 10 Physical and chemical properties of the synergistic agent of mosquito coils

测定指标 Test indicators	结果 Results
含水量 Water content	0.507%
pH 值 pH value	7 – 8
沸程 Boiling range	110℃ – 211℃
旋光度 Optical rotation	+0.021 – 0.041
折光度 Refraction	$N_d = 1.455$; $t = 27.5^\circ\text{C}$
密度 Density	0.938 g/mL

3 讨论

植物精油是一类典型的植物次生代谢产物,具有很好的杀虫、抗菌和抗病毒活性,且与环境相容性好,低毒,易降解且无残留,使其在医药、食品和农业等领域的应用研究越来越受到重视 (Edris, 2007; Bakkali *et al.*, 2008)。已有研究表明,植物精油及其单体对蚊虫具有很好的生物活性,包括杀蚊幼活性 (Pavela, 2015)、熏蒸活性 (Prajapati *et al.*, 2005)、驱避活性 (Amer and Mehlhorn, 2006),其作为卫生用植物源农药引起了人们的普遍关注。但植物精油对已有蚊虫防控剂的增效作用的研究报道较少。

本研究通过对多种植物精油对烯丙菊酯增效作用的研究,发现冬青油、芳樟油、柠檬草油、香樟油等植物的提取物具有明显的增效作用,具有较好的市场开发前景。

通过研究发现,由于天然植物精油的易挥发性,增效剂在放置一段时间后,其增效活性低于刚配制好的,从而对蚊虫的驱杀活性也有所降低。因此植

物源蚊香增效剂应用的关键问题是如何降低其中精油的挥发性。近年来,随着纳米科技的飞速发展,已有许多纳米载体用于植物精油的可控释放,对于增加植物精油的稳定性,提高其利用率和持久性方面取得了很好的效果 (São Pedro *et al.*, 2013)。因此,在今后的此类研究中,可以利用纳米科技将植物精油固定在蚊香的原胚上,以此减少植物精油的挥发,最终达到稳定其增效活性的目的。

近年来由于除虫菊酯类的杀虫剂被大量的使用,使得卫生害虫产生了抗药性 (Smith *et al.*, 2016),因此在卫生害虫的防治方面如何降低其抗药性成为了至关重要的问题。而增效剂能够提高药物活性,减少药物用量,加之其作用方式独特,已经成为抗性治理的一个重要举措 (Falk and Kotin, 1969; Bernard and Philogène, 1993; 陈超等, 2006)。

另外,因为卫生害虫的防治更多的是在室内,所以人们对这一类产品有更高的安全性要求。所以作为蚊香增效剂,首先要达到对人类本身及家畜安全无毒害,其次要残留少,容易降解,所以这对植物源蚊香增效剂的研发提供了较好的发展前景。

本研究虽然通过筛选了少部分植物物质,初步发现了对蚊香具有增效作用的如冬青油、芳樟油、柠檬草油、香樟油等几种植物精油,但是因为涉及的物种较少,还需对更多的植物进行系统地筛选和测试,并更进一步地研究其作用机理 (王以燕, 2003),为研发更多的植物源蚊香增效剂奠定基础。

参考文献 (References)

Amer A, Mehlhorn H, 2011. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitol. Res.*, 99

- (4): 478–490.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M, 2008. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem. Toxicol.*, 46(2): 446–475.
- Bernard CB, Philogène BJ, 1993. Insecticide synergists: role, importance, and perspectives. *Toxicol. Environ. Health A*, 38(2): 199–223.
- Chen C, Jiang ZK, Wang YY, 2006. Activity of against insects. *Chin. J. Hyg. Insect. Equip.*, 12(4): 263–265. [陈超, 姜志宽, 王以燕, 2006. 八氯二丙醚的杀虫活性研究. 中华卫生杀虫药械, 12(4): 263–265]
- Edris AE, 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytoth. Res.*, 21(4): 308–323.
- Falk H, Kotin P, 1969. Pesticide synergists and their metabolites: potential hazards. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 160(1): 299–313.
- Hu SL, 1992. The role of plant essential oil in pest control. *Fragrant Technol. Market*, (9): 44–48. [胡仕林, 1992. 植物精油在害虫控制中的作用. 四川日化, (9): 44–48]
- Hu HY, 1994. Research status and prospect of pesticide mixture. *J. Anhui Agric. Sci.*, 22(S2): 110–111. [胡宏云, 1994. 农药混剂研究现状及展望. 安徽农业科学, 22(S2): 110–111]
- Jiang ZL, Chen AL, Bai W, Lin J, Zhang X, 2002. Fumigating and contact activity of 6 kinds of essential oils on *Musca domestica* L. *Chin. J. Pest. Sci.*, 4(1): 85–88. [江志利, 陈安良, 白伟, 林璉, 张兴, 2002. 六种植物精油对家蝇的熏蒸及触杀毒力测定. 农药学学报, 4(1): 85–88]
- Jiang ZK, Zhao XZ, Li J, 1996. Application of synergist in sanitary insecticide. *Chin. J. Hyg. Insect. Equip.*, 2(4): 10–15. [姜志宽, 赵学忠, 李洁, 1996. 增效剂在卫生杀虫剂中的应用研究. 中华卫生杀虫药械, 2(4): 10–15]
- Liu W, Zhang J, Hashim JH, Jalaludin J, Hashim Z, Goldstein BD, 2003. Mosquito coil emissions and health implications. *Environ. Health Perspect.*, 111(12): 1454–1460.
- Pavela R, 2015. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Ind. Crops Prod.*, 76(4): 174–188.
- Pohlit AM, Lopes NP, Gama RA, Tadei WP, de Andrade Neto V. F, 2001. Patent literature on mosquito repellent inventions which contain plant essential oils – a review. *Planta Med.*, 77(6): 598–617.
- Prajapati V, Tripathi A, Aggarwal K, Khanuja S, 2005. Insecticidal repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresour. Technol.*, 96(16): 1749–1757.
- Qin L, Wang YM, 2005. College of chemical and biological engineering. *Fine Special. Chem.*, 13(12): 1–4. [秦朗, 王亚明, 2005. 松节油在农药增效剂及杀虫剂中的应用与进展. 精细与专用化学品, 13(12): 1–4]
- São Pedro A, Santo I, Silva C, Detoni C, Albuquerque E, 2013. The use of nanotechnology as an approach for essential oil-based formulations with antimicrobial activity. In: Méndez-Vilas A ed. *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them*. Formatex Research Center Publisher, Formatex. 1364–1374.
- Shi XJ, Wang XH, 2006. Present situation and prospect of plant derived pesticide research. *Modern Agric. Sci. Technol.*, (2): 34–36. [史秀娟, 王学海, 2006. 植物源农药研究现状与展望. 现代农业, (2): 34–36]
- Smith LB, Kasai S, Scott JG, 2016. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: important mosquito vectors of human diseases. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 133: 1–12.
- Sola P, Mvumi B, Ogendero J, Mponda O, Kamanula J, Nyirenda S, Belmain S, Stevenson P, 2014. Botanical pesticide production, trade and regulatory mechanisms in sub-Saharan Africa: making a case for plant-based pesticidal products. *Food Sec.*, 6(3): 369–384.
- Tripathi AK, Upadhyay S, Bhuiyan M, Bhattacharya P, 2009. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *J. Pharmacogn. Phytochem.*, 1(5): 52–63.
- Wang YY, 2003. Problems and countermeasures of health insecticide in China in recent years. *Pesticides*, 42(6): 45–46. [王以燕, 2003. 近几年我国卫生杀虫剂存在问题与应对策略. 农药, 42(6): 45–46]
- Wang YY, Wu ZF, Liu SR, Sun HT, 2006. Strengthen management of octachlorodipropyl etheris imperative. *Pestic. Sci. Administrat.*, 25(9): 46–48. [王以燕, 吴志凤, 刘绍仁, 孙化田, 2006. 加强对八氯二丙醚管理势在必行. 农药科学与管理, 25(9): 46–48]
- Wink M, 2015. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*, 2(3): 251–286.
- Wu WJ, 2000. Principles of Pesticides. China Agriculture Press, Beijing. 208–210. [吴文君, 2000. 农药学原理. 北京: 中国农业出版社. 208–210]
- Xu HH, Zhao SH, 1993. Research progress on pest control with plant essential oil. *J. South China Agric. Univ.*, 14(4): 145–154. [徐汉虹, 赵善欢, 1993. 利用植物精油防治害虫的研究进展. 华南农业大学学报, 14(4): 145–154]
- Zhang X, 2008. Pollution-Free Pesticides: Pesticide Pollution-Free. Chemical Industry Press, Beijing. 166–168. [张兴, 2008. 无公害农药: 农药无公害化. 北京: 化学工业出版社. 166–168]

(责任编辑: 赵利辉)